

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang Masalah**

Tubuh manusia merupakan sistem yang kompleks, karena banyak terdapat reaksi kimia di dalamnya. Reaksi kimia dalam tubuh dimungkinkan terjadi karena adanya katalis yang disebut enzim. Enzim memiliki kekhasan untuk bekerja pada satu reaksi saja. Reaksi terjadi apabila enzim melakukan kontak dengan substrat. Ukuran enzim yang lebih besar dari substrat memungkinkan adanya sisi enzim yang melakukan kontak dengan substrat (Anna, 1994: 145).

Aktivitas proteolitik suatu enzim dipengaruhi oleh konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, pH enzim, suhu, adanya reduktor ataupun oksidator, buffer, adanya inhibitor dan aktivator (Anna, 1994: 158-163).

Salah satu materi penyebab terganggunya aktivitas enzim adalah ion logam. Standar Nasional Indonesia (SNI) No. 7387:2009 tentang Batas Maksimum Cemaran Logam Berat dalam Pangan mendefinisikan logam berat sebagai elemen kimiawi metalik dan metaloida yang memiliki bobot atom jenis tinggi yang bersifat racun bagi manusia. Dalam kadar rendah, logam berat umumnya sudah dapat meracuni tumbuhan, hewan, dan manusia (Alsuhendra & Ridawati, 2013).

Bahaya logam berat bagi tubuh manusia terjadi, karena adanya akumulasi dalam tubuh atau biasa disebut bioakumulasi. Bioakumulasi berarti terjadinya peningkatan konsentrasi bahan kimia, termasuk logam berat, di dalam tubuh organisme hidup sepanjang waktu dibandingkan dengan konsentrasinya di dalam tubuh. Dampak dari kontaminasi logam berat yaitu penghambatan kerja enzim dan reaksi logam berat dengan komponen intrasel (Alsuhendra & Ridawati, 2013).

Ion-ion logam berat yang masuk ke dalam tubuh akan bereaksi dengan protein menyebabkan terjadinya koagulasi/penggumpalan. Protein mengalami transformasi konformasi serta posisi, sehingga aktivitas organ tubuh tertentu hilang dan dapat dikatakan tubuh mengalami keracunan. Untuk mengatasi hal tersebut, cara yang paling mudah dilakukan saat seseorang yang keracunan karena

kontaminasi logam yaitu dengan minum susu. Susu dapat digunakan sebagai antidotum atau penawar racun (Anna, 1994: 118).

Logam Ag menempati urutan ketiga pada sifat toksisitas logam, yaitu dengan urutan  $Cd > Hg > Ag > Zn > Mn > Cu > Co > Ni > Cr$  (Borenfreund & Puerner, 1986). Logam perak dalam bentuk perak nitrat bersifat toksik meski dengan konsentrasi  $10 \mu\text{g/mL}$  (Lu *et al.*, 2010). Beberapa penelitian yang telah dilakukan menyatakan bahwa enzim tripsin telah didemostrasikan untuk diinhibisi dengan ion perak (Ballinger *et al.*, 1982). Menurut Eddy (2016) ion logam  $\text{Cu}^{2+}$  dan  $\text{Ag}^+$  bersifat inhibitor terhadap enzim tripsin, sedangkan ion logam  $\text{Zn}^{2+}$  dan  $\text{K}^+$  bersifat aktivator terhadap enzim tripsin dengan menggunakan substrat kasein. Sebagai contoh beberapa ion logam berat yang dapat menurunkan kinerja enzim tripsin, seperti kation  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ , dan  $\text{Zn}^{2+}$  dengan substrat BAEE (Green, 1953).

Kinetika reaksi enzim merupakan pengukuran secara kuantitatif laju reaksi yang dikatalisis dengan enzim. Parameter kinetika enzim yang perlu dipelajari, yaitu  $V_{\text{maks}}$  dan  $K_M$ . Pada kelajuan maksimum ( $V_{\text{maks}}$ ), semua sisi aktif enzim akan berikatan dengan substrat, dengan jumlah kompleks ES yang sama dengan jumlah enzim yang ada. Nilai  $K_M$  dapat digunakan untuk menentukan afinitas enzim-substrat, yang merupakan indikator kekuatan ikatan kompleks enzim-substrat. Nilai  $K_M$  atau konstanta Michaelis-Menten yang dimiliki enzim berbeda-beda.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan nilai  $V_{\text{maks}}$  dan  $K_M$  aktivitas enzim tripsin pada variasi konsentrasi substrat, dan mengetahui jenis inhibitor ion  $\text{Ag}^+$  dalam bentuk senyawa  $\text{AgNO}_3$  terhadap aktivitas enzim tripsin.

## **B. Identifikasi Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat diidentifikasi beberapa masalah sebagai berikut:

1. Terdapat berbagai enzim tripsin yang ada pada perdagangan, diantaranya enzim tripsin merk sigma dan enzim tripsin merk E-Merck.
2. Ada beberapa substrat komersil yang dapat digunakan, diantaranya kasein dan BAEE.

3. Ada beberapa ion logam berat yang menghambat kerja enzim, seperti  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ .
4. Ada beberapa metode untuk menentukan kadar protein, diantaranya metode Kjeldahl, metode Biuret, metode Lowry.
5. Ada beberapa metode yang dapat digunakan untuk menentukan aktivitas enzim yaitu metode Anson dan Kunitz.
6. Kerja enzim dipengaruhi oleh faktor-faktor diantaranya konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, suhu, pH enzim, adanya reduktor ataupun oksidator dan buffer, adanya inhibitor dan aktivator.
7. Ada beberapa parameter kinetika reaksi enzim, diantaranya  $V_{\text{maks}}$  dan  $K_M$ .
8. Ada dua jenis inhibitor, yaitu inhibitor reversibel dan ireversibel. Inhibitor reversibel terdapat tiga macam, yaitu inhibitor kompetitif, inhibitor nonkompetitif, dan inhibitor unkompetitif.

### **C. Batasan Masalah**

Pada penelitian ini diperlukan pembatasan masalah sebagai berikut:

1. Enzim yang digunakan dalam penelitian ini adalah enzim tripsin komersial merk dagang E-Merck.
2. Substrat yang digunakan adalah kasein.
3. Ion logam yang digunakan adalah ion logam  $\text{Ag}^+$  dalam bentuk senyawa  $\text{AgNO}_3$ .
4. Penentuan kadar protein menggunakan metode Lowry.
5. Faktor-faktor yang mempengaruhi kinerja enzim yang akan diteliti adalah pH, suhu, waktu inkubasi, konsentrasi substrat, dan konsentrasi senyawa  $\text{AgNO}_3$ .
6. Penentuan aktivitas enzim menggunakan metode Anson termodifikasi.
7. Penentuan aktivitas enzim tripsin dilakukan pada suhu, pH, dan waktu inkubasi optimum pada substrat kasein.
8. Penentuan nilai  $V_{\text{maks}}$  dan  $K_M$  serta jenis inhibitor enzim menggunakan persamaan Michaelis-Menten dan persamaan Lineweaver-Burk.

### **D. Rumusan Masalah**

Berdasarkan identifikasi dan pembatasan masalah, maka dapat dirumuskan

masalah sebagai berikut:

1. Berapakan nilai  $V_{maks}$  dan  $K_M$  aktivitas enzim tripsin pada variasi konsentrasi substrat dan konsentrasi inhibitor ion  $Ag^+$  pada kondisi optimum?
2. Termasuk jenis inhibitor apa ion  $Ag^+$  terhadap aktivitas enzim tripsin pada kondisi optimum?

#### **E. Tujuan Penelitian**

Berdasarkan rumusan masalah tersebut, maka tujuan penelitian adalah untuk mengetahui:

1. Nilai  $V_{maks}$  dan  $K_M$  aktivitas enzim tripsin pada variasi konsentrasi substrat dan konsentrasi inhibitor ion  $Ag^+$  pada kondisi optimum.
2. Jenis inhibitor ion  $Ag^+$  terhadap aktivitas enzim tripsin pada kondisi optimum.

#### **F. Manfaat Penelitian**

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Bagi peneliti, dapat memberikan pengalaman dalam mempelajari karakter ion logam  $Ag^+$  dalam kaitannya dengan aktivitas enzim.
2. Bagi peneliti lain, sebagai salah satu referensi untuk melakukan penelitian sejenis yang berhubungan dengan karakterisasi ion logam yang lain terhadap aktivitas enzim selain enzim tripsin.
3. Bagi institusi, agar dapat menambah pengetahuan tentang biokimia, khususnya yang berkaitan dengan aktivitas enzim dan inhibitor.